中華農業研究 27(3):245~258 (1978).

亞麻立枯病抑病土壤駐在細菌對萎凋病菌之擷抗效能及田間防治效果[1]

杜金池　程永雄　張義璋[2]

摘要：分離自亞麻立枯病抑病土壤之兼性嫌氣細菌（*Bacillus* sp.）對西瓜、香蕉及亞麻等不同分化型之萎凋病鐮刀菌均有不同程度之抑制作用。亞麻立枯病抑病土壤對各種作物之萎凋病也發現有抑病效果。網室試驗證明供試兼性嫌氣細菌9菌株和嫌氣芽孢桿菌2菌株個別加入土壤內雖均有抑病效果，却以上述全部細菌混合後加入病土之抑病效果最佳，田間試驗將擷抗細菌混合液淋入田間土內，對亞麻生育初、中期之立枯病有防治效果，抑病期限約維持兩個月。

Baker 和 Cook [1] 認爲抑病土壤是利用土壤內微生物而達到生物防治病害之一種土壤。據陳敏等 [3] 之研究，發現本省亞麻立枯病發病田和抑病田土壤內細菌總數雖接近，然細菌種類却迴異；前者好氣性細菌較多，而後者以嫌氣性細菌和兼性嫌氣細菌爲主。這些嫌氣性和兼性嫌氣細菌是否對萎凋病鐮刀菌有擷抗效果，而爲造成抑病土壤之原因，或能否利用此等細菌導入發病田防治亞麻萎凋病，頗值研究。

本研究旨在瞭解亞麻立枯病抑病土壤應用價值，探明兼性嫌氣細菌在抑病土壤內之作用情形，並綜合利用分離自抑病土壤之嫌氣和兼性嫌氣細菌進行盆栽和田間防治試驗，俾確定這些擷抗細菌之生物防治效果。

材料與方法

本研究所採用之抑病土壤爲代號 FS-10, 發病土壤代號爲 FC-11, 業經杜金池等 [11] 證明。供試各農作物鐮刀菌萎凋病原菌均由各農作物罹病株按組織分離法分離所得，再經接種試驗證明病原性而確定分化型（Form species）。各病原菌均培養於馬鈴薯蔗糖瓊脂培養基上，置於光照 24 小時之 20°C 恆溫箱內，並定期行大型分生胞子單胞分離培養備用。

爲探討亞麻立枯病抑病土壤對各種農作物萎凋病之抑制效果，採自田間之抑病土壤和發病土壤分成接種病原菌和不接種病原菌兩種處理。接種後均按稀釋平板法調整土內病原菌密度爲 3,000 菌落／每公克土壤。土壤分別裝入栽盆，栽盆大小視供試農作物之大小而異。香蕉爲大型水缸，每缸栽一株。西瓜和亞麻均爲中型陶製栽盆(直徑 23 cm, 高 20 cm)，西瓜每盆栽五株，亞麻每盆栽植 30株，香蕉每株視同一重複，各處理均設 10 重複，西瓜和亞麻以每栽盆爲一重複，仍設 10 重複，定期自土壤內調查病原菌之消長和各農作物發病情形。病原菌之消長調查依 Nash 和 Snyder [5] 之方法以 PCNB-agar 稀釋平板法估算每公克土壤之病原菌落數。除香蕉萎凋病（黃葉病）病原菌係以菌落比較法估定分化型外，其餘西瓜蔓割病菌和亞麻立枯病菌之分化型均經接種試驗而確定。

爲進一步瞭解抑病土壤對亞麻立枯病和香蕉萎凋病之防治觀察，將亞麻萎凋病抑病土壤和發病土

---

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 845 號。本研究爲行政院國家科學委員會研究專題 NSC-64-0501-0202 (06) 之部分成果。
2. 本所植物病理系技正兼主任及技士。

壤按下述方法處理之：（1）混合 75% 抑病土壤和 25% 發病土壤，（2）混合 50% 抑病土壤和 50%發病土壤，（3）混合 25% 抑病土壤和 75% 發病土壤，（4）發病土壤上平舖抑病土壤 5 cm 厚，（5）100% 發病土壤，（6）100% 抑病土壤等六處理。土壤均裝在中型陶製栽盆，移入溫室（28±4°C），分別於土壤處理 7 天和 180 天後播種亞麻並調查立枯病發生率。

另於屏東縣林邊鄉擇萎凋病發生嚴重之蕉田，以客土方法將一定量抑病土壤倒入植穴（50 cm 直徑 50 cm 深）內，客土量 9 和 20 kg 等兩種，每種客土量均 6 株，每株視同一重複。另設不處理對照 6 株，蕉苗栽植前先將根頭均勻佔附抑病土壤泥漿後再將剩餘土壤傾入植穴。六個月後調查香蕉罹病情形和植株周圍 1.2 m 直徑 60cm 深範圍內土壤中病原菌之密度。

抑病土壤內兼性嫌氣細菌之類別及其對數種萎凋病鐮刀菌分化型菌絲生長之抑制效果調查，所採用之細菌均由陳敏等 [3] 分讓。供試細菌 11 菌株及 *Clostridium* sp.（菌株 S7）分別進行格蘭氏染色，內生胞子產生情形和過氧化氫酵素產生情形觀察。另分別在培養基上測定對亞麻立枯病原菌、番茄萎凋病原菌，香蕉萎凋病原菌和西瓜蔓割病原菌等之生長抑制效果。

上述細菌均係培養於含有 1 %葡萄糖和 1 %消化蛋白之土壤抽出液內備用。培養皿先盛裝土壤抽出液瓊脂培養基（配方同上，另加瓊脂 2 %）10 ml 為基層，俟凝固後加入 1 ml 細菌溶液，其濃度分別為 2×10^9 和 2×10^7 細菌數／每 ml 溶液。以手振盪培養皿使細菌溶液均勻散佈在培養基表面，再加入冷却至約 40～45 C° 之 10 ml 培養基覆蓋其上。俟培養基凝固後，於培養皿中央放置直徑 0.5 cm 之供試鐮刀菌不同分化型。培養皿加蓋後以透明膠紙封閉，俾與外界空氣隔絕。置於 27±3°C 無光照之恆溫箱內 8 天，調查鐮刀菌之菌落生長情形，並換算為生長抑制百分率。本試驗各處理均五重複，反覆試驗 2 次。

利用上述擷抗細菌防治亞麻萎凋病之網室盆栽試驗係在網室進行。試驗期間溫度為 15～30 °C。亞麻立枯病發病土壤（病原菌密度 2,000 菌落／每克土壤）定量分裝於陶製栽盆（直徑 23 cm 20 cm 高）內。將上述擷抗細菌11菌株連同嫌氣芽孢桿菌（*Clostridium*）菌株 S 7（表 4）等 12 菌株以其最適培養溫度培養 2 天後等量均勻混合加入上述土壤內，調節使每公克土壤含細菌量達 9×10^7。

為證明上述細菌之擷抗效果與土壤含水量之關係，又分成下述 4 處理：（A）栽盆置於水盤上，使土壤經常維持潮濕，（B）不置於水盤上，（C）病土不接種細菌，及（D）病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時等。播種亞麻（臺中選一號品種），每栽盆 30 粒種子。調查幼苗發生萎凋病百分率至亞麻生長日數達 75 天為止。並於第 75 天調查土壤內病原菌密度及嫌氣性和兼性嫌氣性細菌之總數目。

加入適量有機質可否影響細菌之擷抗效果為另一值得探討的問題。本項研究係將病土在加入細菌之前按（A）不加入有機質，（B）加入玉米粉 1 %，（C）加入樹薯渣 1 %等 3 種處理。再分成置於水盤上連續供應水份與不連續供應水份，僅每日澆水上下午各 1 次等兩組比較之。另設病土（CK_1）和病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時（CK_2）等 2 處理為對照。處理完成後經過 4 星期播種亞麻，連續調查亞麻立枯病發生率達 72 天。

為進一步測定病土施放各別菌株及不同濃度之細菌混合液對亞麻立枯病之防治效果，病土加入 1 %樹薯渣後接種各供試細菌，接種量均為 9×10^7 細菌／每克土壤。另接種各種細菌混合液，接種量分三種（A）10^7 細菌／每克土壤，（B）10^5 細菌／每克土壤與（C）10^4 細菌／每克土壤等。以病土（CK_1）及病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時（CK_2）及病土加 1 %樹薯渣（CK_3）等為對照。上述試驗均將栽盆置於水盤上連續供應水份。處理後經 4 星期再播種亞麻，調查亞麻發生立枯病百分率至第 45 天為止。上述室內試驗各處理均為 5 重複，反覆試驗 2 次。

為進一步證明上述網室盆栽試驗在田間之可行性，特於民國 64 年 12 月至 65 年 3 月在草屯舉辦田間試驗，供試田間土內含有萎凋病病原菌數為 3,000 菌落／每公克土壤。處理分：（1）整地時施放 12 種細菌（其中一種為嫌氣芽孢桿菌）混合液，施放濃度 9×10^7 細菌／每 cm^2 土壤，（2）整地時加入樹薯渣（700g/每 m^2 土壤）及施放細菌，（3）整地時加入玉米粉（700 g/每 m^2土壤）及

施放細菌，（4）整地時加入樹薯渣，（5）整地時加入玉米粉及（6）未處理等6種。各處理均3重複。小區面積 $6 \times 1.5\,m = 9\,m^2$。

民國64年12月7日處理土壤，處理後灌水一次，並使各種有機添充物充分醱酵21天。於同年12月23日播種亞麻臺中選一號。播種後1星期調查發芽率並於生育初，中及後期各調查亞麻立枯病發生率1次。

試驗結果

一、亞麻立枯病抑病土壤對各種農作物萎凋病之抑病效果觀察

抑病土壤不但對亞麻萎凋病有抑病效果，並且也可抑制西瓜和香蕉之萎凋病（表1和圖1）之發生。導病土壤接種病原菌5個月後香蕉發病率爲100%而抑病土壤爲0%。前者病原菌密度自3,000增加爲4,200菌落／每克土壤，而抑病土壤則減爲120菌落/每克土壤。前者病原菌增加率達40%，而

表 1. 亞麻萎凋病抑病土壤（FS-10）對三種不同農作物萎凋病之抑病效果 [a]

Table 1. Suppressive effect of flax *Fusarium*-suppressive soil to fusarial wilts of three different crops [a]

作物 Crop	土壤情況 Soil condition	導病土壤 Conducive soil 發病率 % wilt	導病土壤 Conducive soil 病原菌密度 [b] Pathogen density (colony/ g. soil)	抑病土壤 Suppressive soil 發病率 % wilt	抑病土壤 Suppressive soil 病原菌密度 [b] Pathogen density (colony/ g. soil)
香蕉	Pathogen-infested	100	4,200	0	120
	Pathogen-free	0	0	0	0
西瓜	Pathogen-infested	95	3,300	6	400
	Pathogen-free	0	0	0	0
亞麻	Pathogen-infested	97	4,100	3	300
	Pathogen-free	0	0	0	0

a. 表列數字除香蕉爲栽植後5個月之結果外，西瓜和亞麻均爲栽植後2個月之結果。Results of 5 months after planting of banana seedlings and 2 months after planting of watermelon and flax seeds.

b. 處理前土壤內病原菌密度爲3,000菌落每公克土壤。The initial pathogen density : 3,000 colonies/ g. soil.

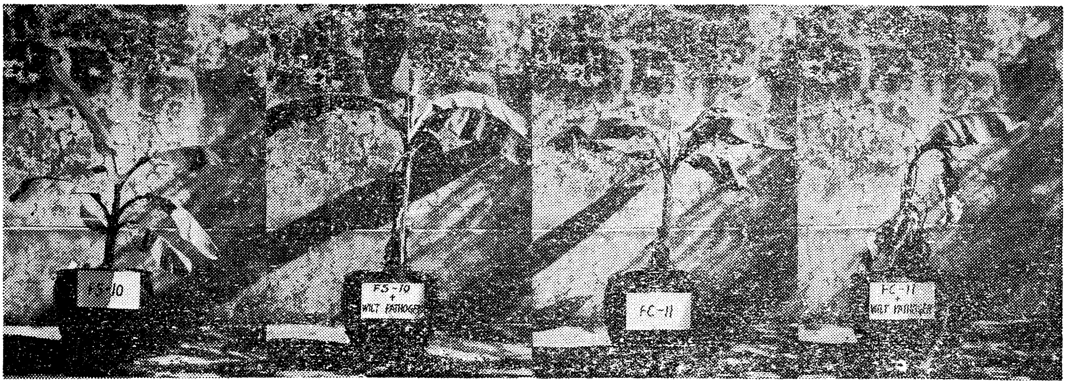

圖 1. 亞麻萎凋病抑病土壤防治香蕉萎凋病（黃葉病）之盆栽試驗（移植後五個月）
FS-10：抑病土壤，FC-11：導病土壤

Fig. 1. Pot experiment on the control of Panama disease of banana with flax Fusarium wilt-suppressive soil. FS-10 : Suppressive soil. FC-11 : Conducive soil.

後者減少25倍。上述土壤種植西瓜和亞麻後之結果，大致與栽植香蕉之情形相似。導病土壤接種病原菌後西瓜發病爲95%，亞麻爲97%，而抑病土壤則均未發現有病株。西瓜和亞麻種植後發病土壤內病原菌之增加率爲10～37%，而抑病土壤內病原菌反而減少7～10倍。

二、病土客入抑病土壤對亞麻立枯病和香蕉萎凋病之防治效果

亞麻立枯病土混入 25% 抑病土壤後對萎凋病效果不彰。處理後1星期播種亞麻時萎凋病發生率仍高達69%，與栽植在 100% 發病土壤之亞麻發病率87%雖統計上差異顯著（5%），但並無實用價值。混合後180天播種亞麻時亞麻發病率略降低。抑病土壤和病土按1：1比率混合後7天播種者發病率爲53%，而180天後播種者爲48%，前者病害降低達34%而後者降低39%。增加抑病土壤之混合比率可增大效果；當25%發病土壤混合75%抑病土壤後7天播種亞麻發病率僅27%，而180天後播種則發病率更降爲11%。前者發病率降低60%而後者降低76%。詳細結果請參閱表2及圖2。

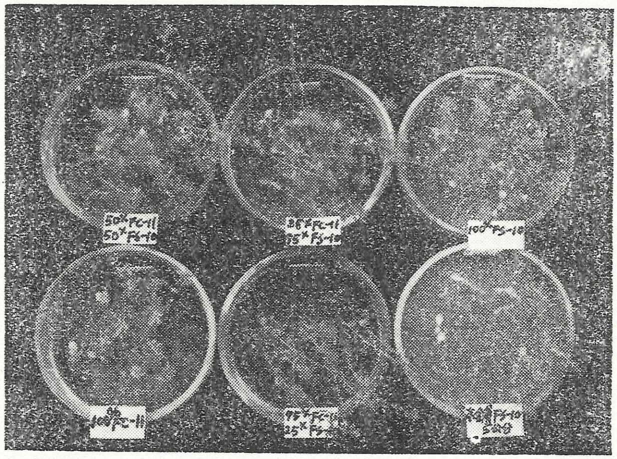

圖 2. 病土（FC-11）混合不同比率之抑病土壤（FS-10）對亞麻萎凋之防治效果。

Fig. 2. Effect of the introduction of suppressive soil to conducive soil at different rates on controlling flax *Fusarium*-wilt.

表 2. 抑病土壤和發病土壤不同混合比率對亞麻萎凋病之防治效果

Table 2. Effect of the mixtures of suppressive-and sick-soil at various ratio on the control of flax *Fusarium* wilt

處理 (Treatment)	發病率 (Diseased plant) (%) 7天 (days)		180天 (days)	
100% 發病土壤	87	e	87	e
75% 發病土壤混合 25%抑病土壤	69	c d	68	c d
50% 發病土壤混合 50%抑病土壤	53	c	48	c
25% 發病土壤混合 75%抑病土壤	27	b	11	a b
100% 抑病土壤	0	a	0	a
發病土壤上平鋪抑病土壤 5cm 厚	65	c d	63	c d

表列英文字母相同者表示依多變域測定5%不顯著。The same English letters indicates Duncan's multiple range groupings of treatments which do not differ significantly at the 0.05 level.

田間試驗證明將抑病土壤客入病田植穴後會抑制香蕉萎凋病之發生，並降低土壤內病原菌之密度（表3）。客土處理量無論每株 20 或 9kg 均有效，而且土壤內病原菌之密度均明顯減少。客土處理區蕉株周圍之土壤內病原菌密度爲 67 菌落/每公克土壤，而未客土之蕉株周圍土壤內病原菌達1,578 菌落/每克土壤，病原菌密度相差達24倍。

表 3. 香蕉黃葉病田客入亞麻抑病土壤對黃葉病之防治效果及處理間土壤內病原菌密度之比較[a]

Table 3. Effect of introduction of suppressive-soil to wilt-sick field on controlling panama disease of banana and the comparison on the pathogen density among treatments[a]

每株蕉苗抑病土壤客土量 Amount of suppressive soil introduced for each seedling	萎凋病發生率（%） % Panama disease	蕉株附近土壤內病原菌密度 Pathogen density in soil at plant site (colony/ g. soil)
20 kg	0	67
9 kg	0	67
無客土 (ck)	85	1,578

a. 客土植蕉後 6 個月之結果。

Results of 6 months after introduction of suppressive soil and transplanting of banana seedling.

三、抑病土壤內兼性嫌氣細菌之類別及其對數種萎凋病鐮刀菌分化型菌絲生長之抑制效果

供試11菌株細菌均爲格蘭氏陽性，俱內生胞子，並產過氧化氫酵素（表 4），故應屬於*Bacillus* spp. 。菌株 S 7 (*Clostridium* sp.)不產生過氧化氫酵素。供試 11 菌株最適生長溫度互不相同（表 4）。故該11菌株細菌雖同爲 *Bacillus* 屬，可能不同種或同種而不同生理小種。

表 4. 供試 11 菌株嫌氣性細菌之性狀比較

Table 4. Characteristics of eleven tested facultative anaerobic bacteria

細菌菌株代號 Isolate no. of bacterium	格蘭氏染色 Gram test	內生胞子之產生情形 Endospore formation	過氧化氫酵素測定 Catalase test	最適生長溫度（°C） Optimum growth temp.
5 d	+	+	+	10～13
F 17	+	+	+	15～16
F 17a	+	+	+	20～24
F 17b	+	+	+	30～32
F 17d	+	+	+	14～18
F 17f	+	+	+	28～32
F 17g	+	+	+	11～14
F 17h	+	+	+	30～34
S 1a	+	+	+	28～31
S 1b	+	+	+	32～34
S 1c	+	+	+	30～33
S 7 [a]	+	+	−	31～35

a. Known to be an isolate of *Clostridium* sp. (陳等，12)

在一定溫度（27±3°C）下各菌株對不同作物萎凋病鐮刀菌之生長抑制效果互不相同（表 5，圖 3、4、5）。在 9 cm 直徑之培養皿內施放細菌數 2×10^9 比 2×10^7 效果爲佳。在 27±3°C 溫度下以菌株 S 1a, S 1b 和 S 1c 對各種農作物萎凋病鐮刀菌之抑制效果較佳（圖 4）。菌株 S 7（*Clostridium*）在 2×10^9 濃度下對亞麻立枯病菌之生長也有完全抑制之效果（圖 3），其餘各菌株

之抑制效果均較差（圖5）。

表 5. 兼性嫌氣細菌對萎凋病鐮刀菌不同分化型之生長抑制效果

Table 5. Inhibitory effects of various facultative anaerobic bacteria on the hyphal growth of some *Fusarium*-wilt pathogens (27±3°C)

細菌菌株代號 Isolate No. of bacterium	濃度 Concentration (Bacterial No./64 sq. cm)	供試萎凋病鐮刀菌不同分化型及其生長抑制率（%） Tested formae of *Fusarium oxysporum* and % of hyphal growth inhibition			
		lini	lycopersici	cubense	niveum
5 d	2×10^9 2×10^7	15.0 2.5	11.1 7.3	9.6 0	8.7 12.5
F 17	2×10^9 2×10^7	15.1 7.6	11.8 7.2	19.0 2.4	8.7 0.9
F 17a	2×10^9 2×10^7	19.1 12.4	16.5 12.9	23.6 15.3	18.5 16.3
F 17b	2×10^9 2×10^7	15.6 14.7	14.0 0.5	12.5 13.9	15.1 18.9
F 17d	2×10^9 2×10^7	9.7 12.0	11.8 8.7	9.3 12.1	4.4 9.9
F 17f	2×10^9 2×10^7	20.5 10.0	33.5 29.9	15.0 15.0	25.0 12.5
F 17g	2×10^9 2×10^7	8.5 6.5	17.7 4.2	5.9 1.2	5.6 3.6
F 17h	2×10^9 2×10^7	10.0 9.6	14.5 2.2	5.9 0	16.7 1.7
S 1a	2×10^9 2×10^7	55.3 18.8	48.4 30.7	65.1 39.9	68.5 32.0
S 1b	2×10^9 2×10^7	62.4 10.9	58.7 27.1	58.0 23.7	26.6 24.3
S 1c	2×10^9 2×10^7	30.9 9.1	27.6 16.9	62.3 14.4	53.4 18.0

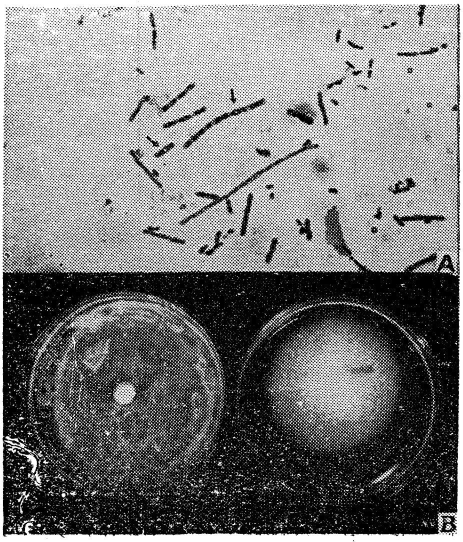

圖 3.A. 嫌氣芽孢桿菌（*Clostridium* sp.）菌株 S7 之形態（箭頭表示內生胞子） B. 其抑制亞麻萎凋病病原菌菌絲生長之情形。

Fig. 3. A. Morphology of *Clostridium* sp. isolate S7 (arrows indicate the endospores) B. its effect on the inhibition of the hyphal growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*.

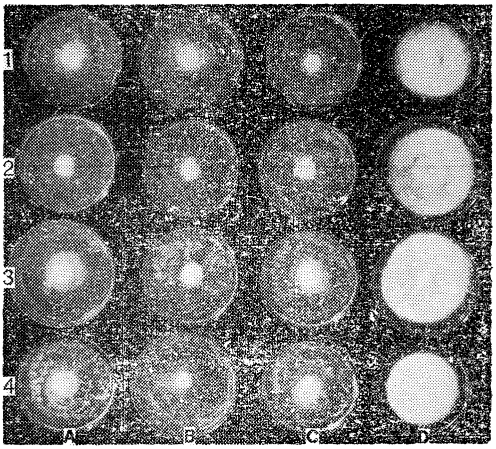

圖 4. 兼性嫌氣細菌 (*Bacillus*) 三菌株對萎凋病鐮刀菌數種分化型菌絲生長之抑制情形 (24～30°C, 8天)
A=菌株 S1a, B=菌株 S1b, C=菌株 S1c, D=對照無細菌 (CK)
1=*F. oxysporum* f. sp. *niveum*,
2=*F. oxysporum* f. sp. *cubense*
3=*F. oxysporum* f. sp. *lini*,
4=*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Fig. 4. Inhibition of hyphal growth of various formae of *Fusarium oxysporum* by 3 isolates of facultative anaerobic bacteria (*Bacillus* sp.) (24-30°C, 8 days)

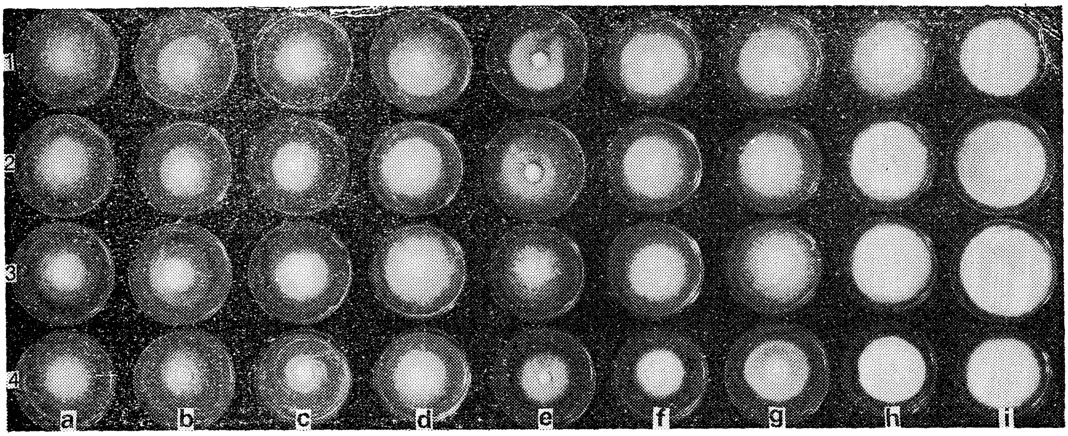

圖 5. 兼性嫌氣細菌 (*Bacillus*) 八菌株對萎凋病鐮刀菌數種分化型 (同圖 4) 菌絲生長之抑制情形 (24-30°C, 8天)。a: isolate F17, b: isolate F17b, c: isolate F17d, d: isolate F17f, e: isolate F17g, f: isolate F17h, g: isolate 5d, i: control

Fig. 5. Inhibition of hyphal growth of various formae (as Figure 4) of *Fusarium oxysporum* by 8 isolates of facultative anaerobic bacteria (*Bacillus* spp.) (24-30°C, 8 days)

四、利用擷抗細菌防治亞麻萎凋病之網室盆培試驗

盆栽試驗證明連續供應土壤水份可增加擷抗細菌之抑病效果 (表 6)。於亞麻生長 75 天後，連續供應土壤水份之處理累計萎凋病發生率為 10.6%，而未連續供應水份之處理發病率為 23.5%，病害發生因水份而增減達 12.9%。處理細菌後 75 天土壤內病原菌之密度自 2,000 菌落/每克土壤 (病土內病原菌密度) 急劇減少；連續供水處理為 146 菌落/每克土壤，不連續供水處理為 293 菌落/每克土壤。病土因栽植亞麻而增加為 3,466 菌落/每克土壤。病土不接種細菌或病土經 60°C 蒸氣殺菌處理後均可分離到嫌氣性細菌，其密度為 1.4～2.5×10^2 細菌/每克土壤，表示嫌氣性細菌普遍存在於土壤內，但這些細菌可能沒有擷抗效果或因數目太少而不足顯現效果。接種細菌後連續供水之細菌密度為 1.4×10^8 細菌/每公克土壤，比不連續供應水份之 2.2×10^7 細菌/每公克土壤為多。詳如表 6 和圖 6。

表 6. 土壤供水情形和擷抗細菌抑制亞麻萎凋病之關係

Table 6. Influence of water supply on the suppressive effect of antagonistic bacteria to flax *Fusarium*-wilt (pot test at the temperature range of 19±4°C)

處 理 Treatment		萎凋病發生率 (%) % wilt		75天後病原菌密度 Pathogen density after 75 days (colony/ g. soil)	75天後嫌氣性細菌總密度 Anaerobic & aerotolerate bacteria density (cells/ g. soil)
		40 天 (days)	75 天 (days)		
病土接種10菌株細菌混合液並連續供水	(a)	0	10.6	146	1.4×10^8
病土接種10菌株細菌混合液不連續供水	(b)	3.7	23.5	293	2.2×10^7
病土	(c)	90.2	97.9	3,466	1.4×10^2
病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時	(d)	0	0	0	2.5×10^2

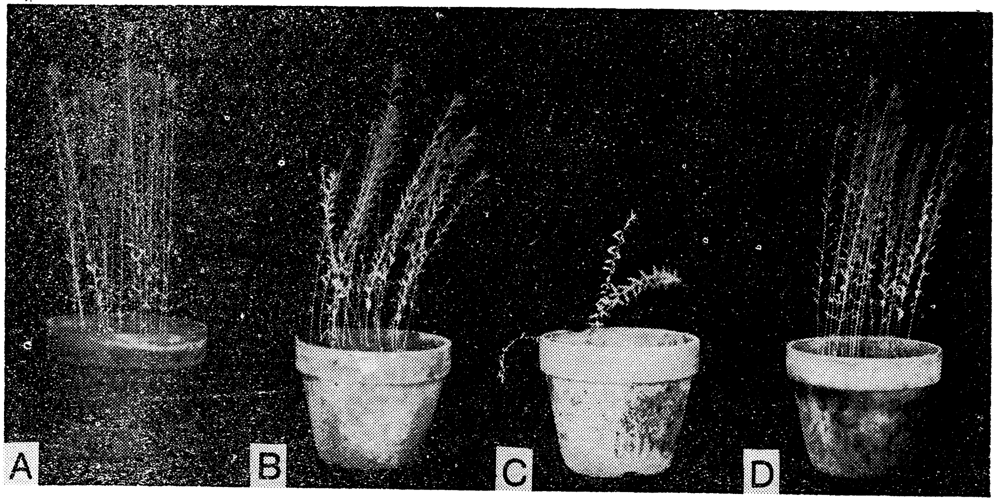

圖 6. 土壤供水情形對擷抗細菌抑制亞麻萎凋病之影響 (15～23°C, 75天)。A：病土接種多種擷抗細菌後連續供水，B：如同A處理但僅每天澆水二次 ，C：病土，D：病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時。

Fig. 6. Influence of water supply on the effect of antagonistic bacteria to flax *Fusarium*-wilt. A : sick soil inoculated wtih antagonistic bacteria and continuous water supply. B : same as "A" treatment but only watered twice a day. C : sick soil. D : sick soil steam sterilized at 60°C for 1 hr.

土壤添加有機質會增加擷抗細菌之抑病效果 (表 7 ，圖 7)。在氣溫 26±4°C 環境下，病土雖然接種擷抗細菌並連續供應水份，但 75 天後亞麻累積發病率仍高達 36.3%，如未連續供應水份則發病率爲 64.9%。土壤添加樹薯渣或玉米粉之處理 75 天後累積發病率分別爲連續供水處理 11.5～14.5%，未連續供水處理 17.9～39.8%。添加玉米粉後土壤是否連續供水對抑病效果之影響甚大，但添加樹薯渣則否。另以亞麻之生長日數與發病之關係觀之，亞麻株生長40天後其感病性漸趨安定 (表 7)，故病害發生率之觀察，應不得少於 40 天。

表 7. 土壤增添有機質對擷抗細菌抑制亞麻萎凋病之影響

Table 7. Influence of organic amendment on the suppressive effect of antagonistic bacteria to flax *Fusarium*-wilt (pot test under temperature range of 19-30°C)

處　理 Treatment	萎凋病發生率（%） % wilt			
	21 天 (days)	40 天 (days)	60 天 (days)	75 天 (days)
病土接種擷抗菌並連續供水 (A)	3.8	33.7	35.6	36.3
病土接種擷抗菌不連續供水 (a)	11.6	46.2	57.9	64.9
病土添加 1 %玉米粉接種擷抗菌並連續供水 (B)	1.4	10.4	10.4	11.5
病土添加 1 %玉米粉接種擷抗菌不連續供水 (b)	8.0	36.1	39.9	39.9
病土添加 1 %樹薯渣接種擷抗菌並連續供水 (C)	0.9	6.7	10.9	14.5
病土添加 1 %樹薯渣接種擷抗菌不連續供水 (c)	5.0	12.8	13.6	17.9
病土 (ck_1)	51.9	62.8	69.7	74.6
病土經 60°C 蒸氣殺菌 1 小時 (Ck_2)	0	0	0	0

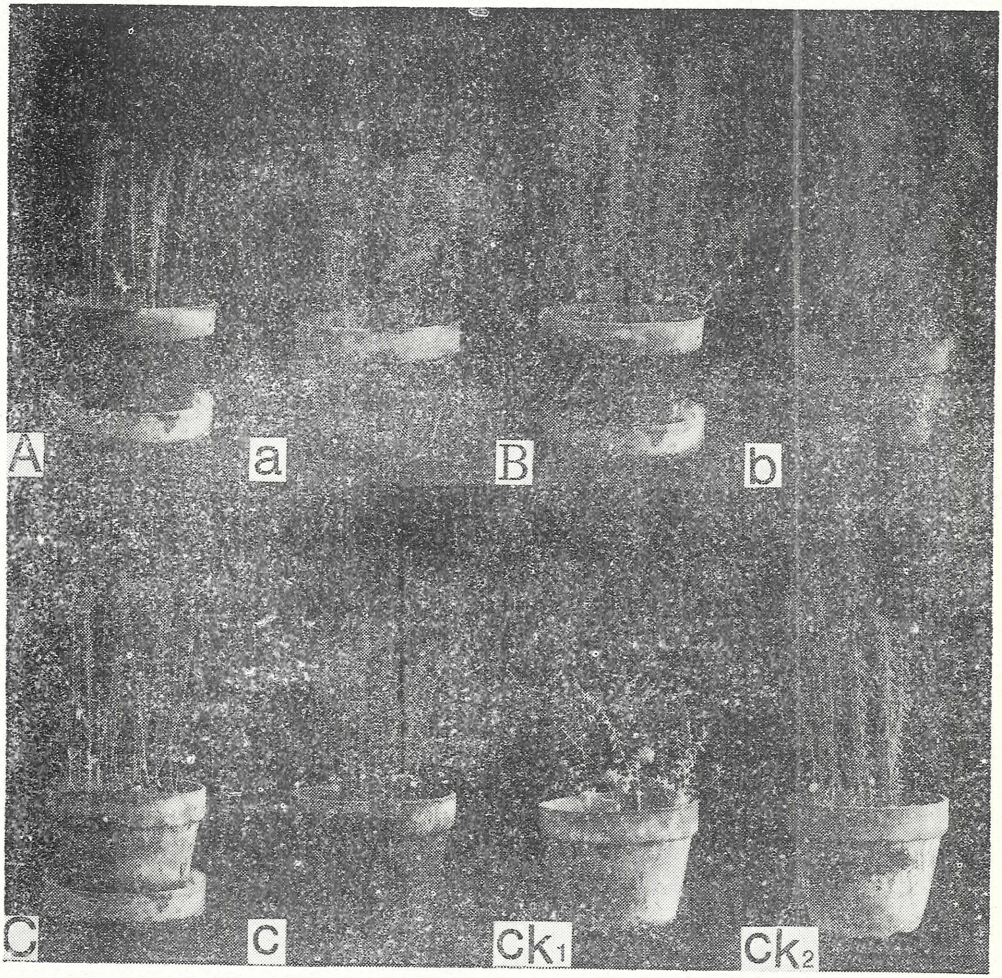

圖 7. 土壤添加有機質對擷抗細菌抑制亞麻萎凋病之影響（19～30°C, 75天）。
A：病土接種擷抗細菌連續供水。a：同"A"處理但僅每天澆水兩次。B：病土加入玉米粉後接種擷抗細菌連續供水。b：同"B"處理但僅每天澆水兩次。C：病土加入樹薯渣後接種擷抗細菌連續供水。c：同"C"處理但僅每天澆水兩次。Ck_1：病土。Ck_2：病土 60°C蒸氣殺菌 1 小時。

Fig. 7. Influence of organic amendment on the suppressive effect of antagonistic bacteria to flax *Fusarium*-wilt (10-30°C, 75 days).
A : sick soil inoculated with antagonistic bacteria, continuous wet. a : same as "A" but only watered twice a day. B : sick soil inoculated with antagonistic bacteria and amended with cornmeal, continuous wet. b : same as "B" but only watered twice a day. C : sick soil inoculated with antagoninic bacteria and amended with casaba residue, continuous wet. c : same as "C" but only watered twice a day. CK1 : sick soil. CK2 : sick soil steam sterilized at 60°C for 1 hr.

進一步試驗結果證明各細菌菌株對亞麻立枯病均有防治效果。尤以菌株 F17b 最有效。而 S1a 防治效果最差。前者發病率僅 3.5% 而後者高達 24%。施用 10 菌株擷抗細菌之混合液可提高防治效果，尤以施用細菌濃度爲 10^7／每克土壤時最有效，發病率僅 2.0%。病土添加樹薯渣時發病率爲 26.9%，而未加入樹薯渣處理發病率爲 59.5 %，表示病土加入樹薯渣後雖不接種擷抗細菌仍然有某種程度之防治效果。詳細結果如表 8 及圖 8。

表 8. 個別擷抗細菌及不同濃度之 10種擷抗細菌混合液對亞麻萎凋病之防治效果

Table 8. Effects of individual antagonistic bacterium and combination of 10 isolates of antagonistic bacteria at different concentrations on the control of flax *Fusarium*-wilt

細菌菌株代號[a] Isolate No. of bacterium[a]	種植 40 天後萎凋病發生率 % wilt at 40 days after planting
Individual bacterium applied at the concentration of 9×10^7 cells/ g. soil	
F17	8.8
F17a	6.3
F17b	3.5
F17d	9.5
F17f	4.0
F17g	8.9
F17h	7.8
5d	9.5
S1a	24.0
S7	12.2
Combination of 10 isolates of antagonistic bacteria applied at various concentration	
10^7cells/ g. soil	2.0
10^5cells/ g. soil	6.0
10^4cells/ g. soil	9.9
CK1 (sick-soil)	59.5
CK (60°C steam sterilized soil)	0
CK3 (sick-soil amended with casaba residue)	26.9

a 細菌係接種於已添加樹薯渣之病土，試驗期間並連續供給水份

Bacteria were applied into casaba residue amended-sick soil with continuous water supply

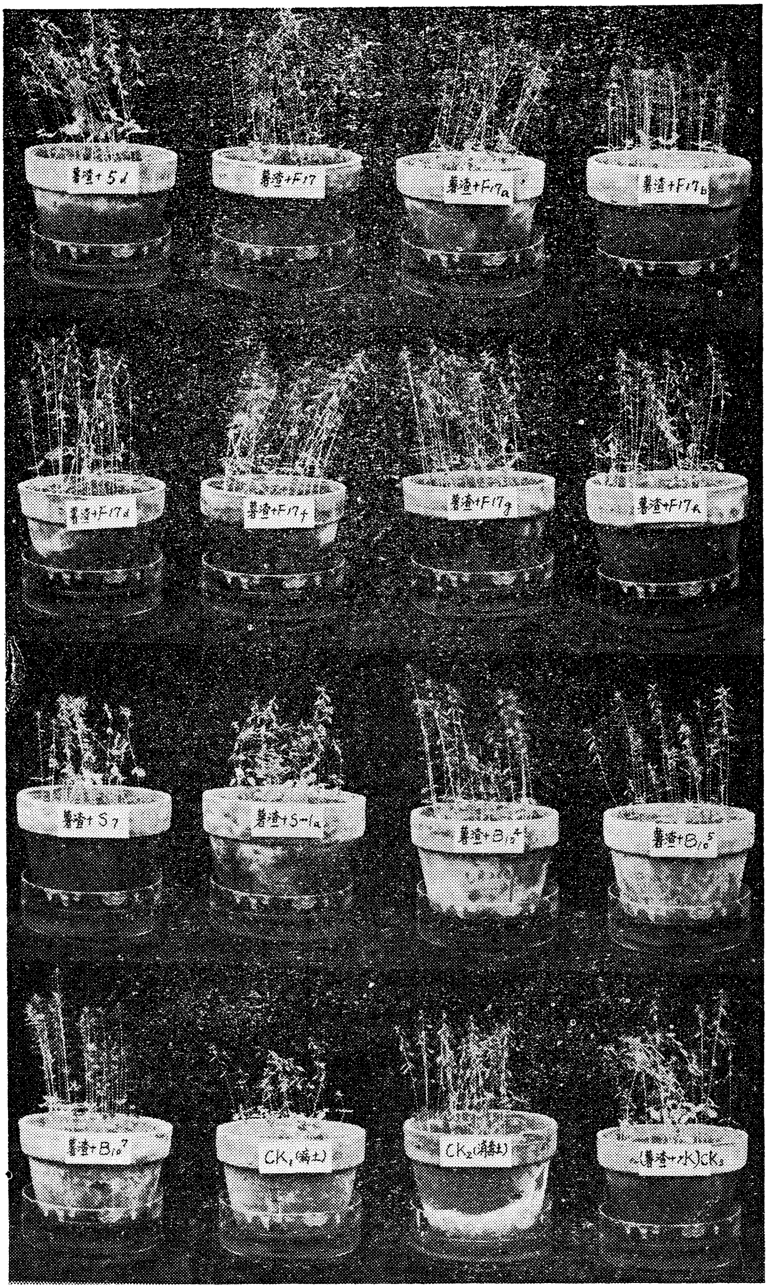

圖 8. 拮抗細菌各別菌株以及多種菌株混合液對亞麻萎凋病之抑病效果（14～22°C，40天）

Fig. 8. Effect of individual isolate (including 5d, F17, F17a, F17b, F17d, F17f, F17g, F17h, S1a, or S7) and mixture of all isolates at different concentrations (10^4, 10^5, 10^7 cells/ g. soil) on the control of flax *Fusaium*-wilt (14-22°C, 40 days) .

五、利用拮抗細菌和有機添充物防治亞麻立枯病之田間試驗

加入樹薯渣和細菌之處理在亞麻生育初期（50 天）發病率爲 19%，對照區爲 69%，發病率相差達 50%，防治結果至爲顯著。至亞麻生育中期(70 天）該處理仍繼續維持顯著之防治效果，發病率爲

表 9. 擷抗細菌和施用有機添充物對亞麻萎凋病之田間防治試驗

Table 9. Results of field test on the control of flax *Fusarium*-wilt by application of antagonistic bacteria in combination of organic amendment

處　　理 Treatment	發　芽　率 % germination	亞麻萎凋病發生率 (%)　% wilt 50 天 (days)	 70 天 (days)	 90 天 (days)
添加玉米粉並施放細菌	58	49 bc	60 bc	68 a
添加樹薯渣並施放細菌	63	19 a	38 a	59 a
施放細菌	53	44 bc	57 ab	68 a
添加玉米粉	59	58 cd	64 bc	88 ab
添加樹薯渣	61	33 b	51 ab	81 ab
未處理 (對照)	64	69 de	79 cd	96 bc

英文小體字母相同表示依 Duncan's 氏多變域測定法測出 5 %不顯著。The same English small letters indicate Duncan's multiple range groupings of treatments which do not differ significantly at the 0.05 level.

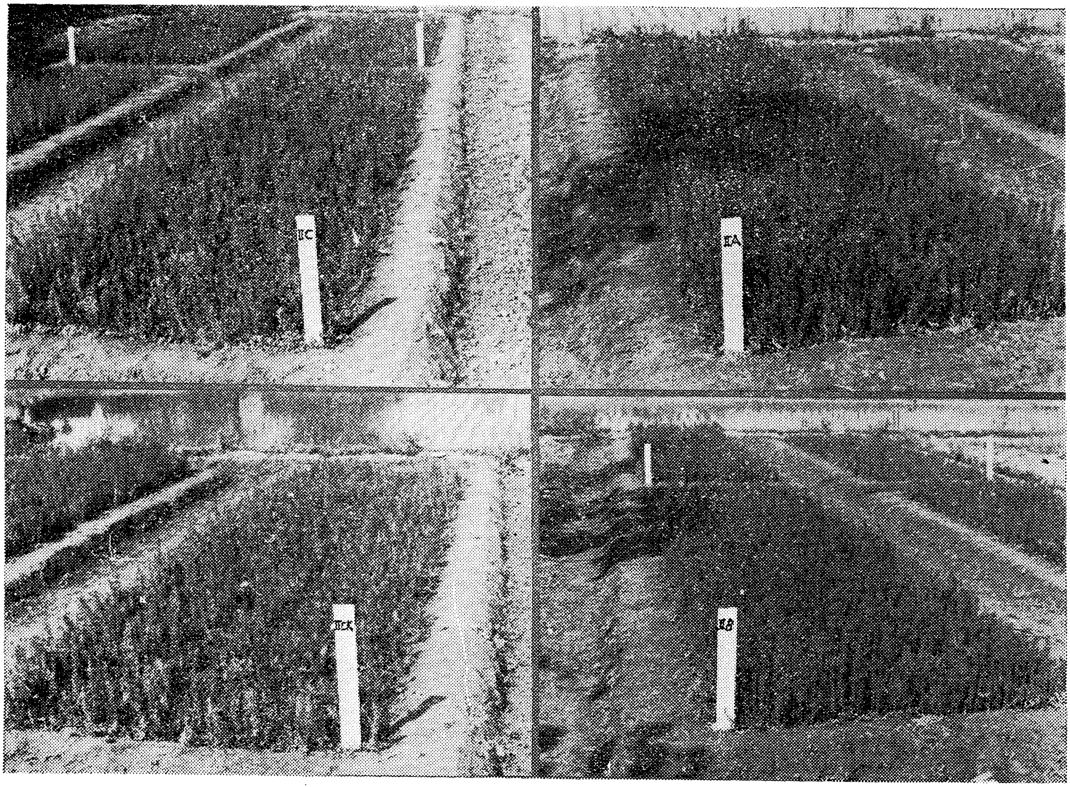

圖 9. 施用擷抗細菌混合液和有機添加物防治亞麻萎凋病之田間試驗 (亞麻生長50天) 。
A：施放細菌並加入玉米粉爲有機添加物。 B：施放細菌並加入樹薯渣爲有機添加物。C：施放細菌。
CK：對照未處理。

Fig. 9. Field experiment on the control of flax *Fusarium*-wilt by application of antagonistic bacteria and organic amendments (50 days old flax) . A : applied with antagonistic bacteria and cornmeal as organic amendment. B : same as "A" treatment but using casaba residue as organic amendment. C : applied with antagonistic bacteria only. CK : control (without treatment) .

38%，比對照區減少 41%。至生育中後期（90 天)發病率爲 59%，而對照區發病率已達 96%，防治效果在統計上仍然爲顯著，但因處理區罹病率高於 50%，故無經濟實效。

綜觀田間試驗結果（表 9 、圖 9），病田加入細菌和有機添充物（玉米粉或樹薯渣）或僅加入細菌或僅加入樹薯渣對亞麻生育初中期（70 天以前）之立枯病有防治效果。生育中後期（90 天以後）雖仍然有效，但因發病率高達59～68%，失却實用價値。

討　論

抑制鐮刀菌土壤早在 1922 年 L. Knudson 已有記述[9]，惟至1972年「抑病土壤」一詞才被正式認定並引起植物病理學界之重視[10]。

目前萎凋病抑病土壤可以分成兩類：除發現於一般農田之抑病土壤如 Smith 和 Snyder[7] 所證明者外，另一類是發現在針葉樹林[6]。後者之形成已知和森林土壤之種類、覆蓋植物種類、植物殘體及其分泌物有關[6]，但前者之形成原因則尙不得而知[10]。陳敏等[3] 已證明抑病土壤內含有較多之嫌氣芽孢桿菌（*Clostridium* sp.），並證明對 *F. oxysporum* 有仰制效果。但在抑病土壤內尙有兼性嫌氣菌或好氣菌之存在則爲不可否認之事實。

本研究採用之11菌株兼性嫌氣細菌均證明爲 *Bacillus* spp.。這些菌株均分離自抑病土壤並且對不同分化型之 *F. oxysporum* 有不同程度的擷抗效果（表 5）。*Bacillus* 和 *Pseudomonas* 曾發現對 *F. oxysporum* f. sp. *cubense* 有溶菌效果[4]，*B. cereus*, *B. megaxerium* 和 *B. subtilis* 等三種細菌亦均被證明對 *F. oxysporum* 有擷抗效果[2]。惟據趙和吳氏[2] 之報告，這些細菌均以產生抗生作用（Antibiosis）爲主，與本研究所得結果略有不同。本研究採用之 *Bacillus* 對 *F. oxysporum* 抑制並不產生透明圈（Clear zone），而却能抑制鐮刀菌菌落之繼續繁衍擴大（圖 3 、4 及 5），鏡檢亦未發現有溶菌（Lysis）現象。故其作用原理以競爭（Competition）和其代謝產物之靜菌（Fungistasis）效果爲主。Smith[7] 發現 *Arthrobacter* 在香蕉黃葉病抑病土壤內特多，其作用如何，尙未盡瞭解。

亞麻立枯病抑病土壤，不但對亞麻立枯病有抑病效果，而且對西瓜蔓割病，香蕉黃葉病均有抑病作用（表 1 、圖 1）。香蕉黃葉病之客土防治並於田間證實（表 3）。此結果顯示鐮刀萎凋病抑病土壤並無專屬性而可將亞麻之試驗結果應用在香蕉黃葉病或其他農作物萎凋病之防治。

雖然抑病土壤之形成原因可能極複雜，但考之分離自抑病土壤之嫌氣芽孢桿菌（*Clostridium*）和兼性嫌氣桿菌（*Bacillus*）對不同分化型萎凋病鐮刀菌有擷抗效果而且抑病作用亦無專屬性之事實，顯示這些擷抗細菌爲造成抑病土壤之一種原因或造成抑病過程之一種生物現象，殆無疑問。

自抑病土壤分離所得之擷抗細菌最適生長範圍互不相同（表 4），在 18±4°C 溫度範圍下單獨各菌株細菌於病土（已含有適量有機質）內，呈現不同程度之擷抗效果，但以各菌株混合後接種土內效果最佳（表 8）。此結果可能因細菌生長適溫互不相同，在溫差較大環境下各菌株之擷抗效果互相彌補而得長期維持擷抗效果使然。

病土接種擷抗細菌或同時加入玉米粉或樹薯渣等有機質並不能完全抑病（表 6 、7）而田間防治試驗之結果亦顯示僅施用後 50 天內對立枯病有較顯著之防治效能，90 天後雖尙有效，但發病率已高達59—68%，顯然已無實用價値（表 9）。由此吾人推測，抑病土壤之形成原因當不止擷抗細菌一項而已。抑病土壤爲何經常維持這些擷抗細菌在高族羣密度，呈現優越抑病效果，而人工接種者則否，以及土內病原菌族羣密度和擷抗細菌族羣密度間之制衡比率等問題尙多，均需繼續研究。

參 考 文 獻

1. Baker, K. F. and R. J. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens. W. H. Freeman and Co. San Francisco. 433p.

2. Chao, C. C. and M. H. Wu. 1975. Biological control of the causal agents of poor ratoon cane in monoculture field. Rept. Taiwan Sugar Res. Ins. 68 : 43-54.
3. Chen, M. , C. C. Tu and L. H. Jwo. 1976. Effect of Clostridium in the control of flax *Fusarium*-wilt. J. Agri. Res. China 25 : 291-298.
4. Mitchell, R. , and M. Alexander. 1962. Microbiological processes associated with the use of chitin for biological control. Proc. Soil Sci. Soc. Amer. 26 : 556-558.
5. Nash, S. M. and W. C. Snyder. 1962. Quantitative estimation by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology 52 : 567-572.
6. Smith, R. S. Jr. 1967. Decline of *Fusarium oxysporum* in the roots of *Pinus lmbertiana* seedlings transplanted into forest soils. Phytopathology 57 : 1265.
7. Smith, S. N. 1976. Association of *Arthrobacter* with banana wilt Fusaria in suppressive soils. Proc. Amer. Phytopath. Soc. 2 : 79.
8. Smith, S. N. and W. C. Snyder. 1972. Germination of *Fusarium oxysporum* chlamydospores in soils favorable and unfavorable to wilt. Phytopathology 62 : 273-277.
9. Stover, R. H. 1962. Fusarial wilt(Panama disease)of banana and other *Musa* species. Commonwealth Mycol. Inst. Phytopathol. Paper 4. 117p.
10. Toussoun, T. A. 1975. *Fusarium*-suppressive soils. p. 145-151. *In* G. W. Bruehl. (ed.). Biology and control of soil-borne plant pathogens. Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul, Minn. 216p.
11. Tu, C. C. 1975. Flax *Fusarium* wilt-suppressive soil in Taiwan and the existance of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in rice root. National Science Council Monthly 3 : 20-36.
12. Tu, C. C. , Y. H. Cheng and M. Chen. 1975. Flax *Fusarium* wilt-suppressive soil in Taiwan. Plant Protect. Bull. 17 : 390-399.

Antagonistic effect of some bacteria from *Fusarium* wilt-suppressive soil and their effect on the control of flax wilt in the field[1]

by C. C. Tu, Y. H. Cheng and Y . C. Chang

Summary

Flax *Fusarium* wilt-suppressive soil was proved to be also suppressive to banana and watermelon wilts. Nine isolates of facultative anaerobic *Bacillus* isolated from this soil were antagonistic to various form species of *F. oxysporum* on petri dish. Excellent disease control of flax wilt was obtained with application of these antagonistic bacteria into the infested soil in pot test. However, the control effect of these antagonistic bacteria lasted for only about 2 months in the field.

1. Contribution No. 845 from the Taiwan Agricultural Research Institute.